

DIVERSITATEA
LACTOBACTERIILOR TUBULUI DIGESTIV
ȘI ROLUL LOR ÎN MENTȚINEREA STATUSULUI
FUNCȚIONAL INTESTINAL OPTIM

Maria TIMOȘCO¹, Aliona VELCIU¹, Natalia FLOREA,² Victoria BOGDAN¹,
Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al AȘM¹,
USMF N. Testemițanu

Summary

The Lactobacterials Diversity and their Role in Maintaining Optimal Intestinal Function of the Digestive Tract

It is established that various types of lactic acid bacteria fulfilling a significant role are specific for the human digestive tract depending on age. The negative changes in the intestinal functional status correlate with a decrease in time of the quantitative and qualitative indices of lactic acid bacteria in the intestinal flora. Here are highlighted the vulnerable age periods related to the negative changes in the lactic acid bacteria species and numerical value: the early postnatal period and over the age of 50. It was found that maintaining an optimal functional status of the intestine requires specific prophylactic and therapeutic uses of bacteria.

Key words: *lactobacillus, digestive tract, the intestinal microflora.*

Резюме

Разнообразие лактобактерий пищеварительного тракта и их роль в поддержании оптимального функционального статуса кишечника

Доказано, что для пищеварительного тракта человека в разных возрастах характерны различные виды лактобактерий, которые выполняют важную роль. Изменение функционального статуса кишечника в отрицательном направлении соответствует моменту снижения лактобактерий, их количественных и качественных показателей в кишечном содержимом. Были найдены уязвимые возрастные периоды, соответствующие негативному изменению численного значения видов лактобактерий: ранний послеродовой период и после 50-ти лет. Было установлено, что поддержание оптимального функционального состояния кишечной микрофлоры требует бактерио-профилактических и бактерио-терапевтических мер.

Ключевые слова: *лактобактерии, пищеварительный тракт, кишечная микрофлора.*

Actualitatea temei

Actualmente interesul savanților față de lactobacterii este în creștere. Acest fapt este confirmat prin analiza detaliată a surselor bibliografice existente prin prizma interacțiunii lactobacteriilor cu alte genuri de microorganisme [7, 24] și rolului acestora în activitatea vitală a macroorganismului, care este indiscutabil [1, 5, 9, 13, 17, 18]. Importanța foarte mare a acestor bacterii constă în faptul că ele îndeplinesc și un rol semnificativ în imunitate, care în majoritate se datorează proprietăților adezive sporite [2, 11, 12, 15].

Studiind informația din literatură, s-a constatat că lactobacteriile sunt obligatorii pentru tubul digestiv uman și cel animal, reflectă o influență inhibitoare asupra procesului de multiplicare ulterioară a agenților microbieni sau a reprezentanților microbieni din genurile *Escherichia*, *Proteus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* etc., fiind concomitent considerați condițional patogeni, cauzatori ai putrefacției sau maladiilor inflamatorii și caracteristici florei microbiene tranzitorii [1, 5, 9, 13]. De aceea, atenția maximală a cercetătorilor a fost orientată spre bacteriile nominalizate, aderate la mucoasa tubului digestiv, sau la cele ce contactează cu celulele lui epiteliale [9,20]. Această informație este confirmată prin exemplul analizei genului *Lactobacillus*, care în determinantul Bergy 1984 a fost prezentat de 25 de specii de lactobacterii, iar în cel din 2005 – de 153 de specii. Mai detaliat acest gen este descris de noi în 2010, fiind demonstrat faptul că doar 12 specii dintre ele sunt obligative tubului digestiv uman și celui animal (*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. cellobiosus*, *L. helveticus*, *L. antry*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. leichmanii* și *L. coryniformis*), ceea ce constituie circa 7,84% [6].

Dacă până în anul 1997 unii reprezentanți ai microorganismelor în formă de coci (grupul D) erau considerați ca aparținând ai unui gen *Streptococcus*, apoi actualmente aceștia includ o specie din genul *Streptococcus* (*S. thermophilus*), două din genul *Lactococcus* (*L. lactis*, *L. cremoris*) și două din genul *Enterococcus* (*E. faecalis* și *E. faecium*). Astfel de microorganisme sunt utilizate pe larg la fabricarea produselor lactate fermentate, prețioase pentru alimentația populației [4, 16, 19, 25], pentru că prezența lactobacteriilor cu proprietăți probiotice este strict necesară în tubul digestiv [3, 21]. În baza acestor date, a fost rațional de atras atenția la faptul că lactobacteriile sunt reprezentante ale 4 genuri: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* și *Leuconostoc*, care sunt atribuite la grupurile 17 și 19 [6].

Majoritatea surselor de informație ne comunică despre faptul că lactobacteriile au proprietăți probiotice și pot fi propuse în calitate de stimulatori biologici, având influență pozitivă asupra

organismului datorită particularităților lor specifice și proprietăților utile (antagoniste, adezive, de sinteză etc.) [1, 5, 9, 13].

Cele expuse au stat la baza profilaxiei și tratamentului multor stări patologice intestinale, inclusiv dismicrobismului și disfuncțiilor diareice, și au argumentat recomandarea lactobacteriilor în acest scop [14, 17, 23, 26, 27].

Rezultatele investigațiilor noastre precedente au confirmat că speciile de lactobacterii obligative tubului digestiv au acțiune de combatere a reprezentanților florei microbiene intestinale din genurile: *Escherichia*, *Proteus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* etc. [24].

Din cele expuse reiese că prezența lactobacteriilor în tubul digestiv uman în număr optim, specific anumitor vârste, este un factor pozitiv. Acest postulat a argumentat faptul necesității obținerii noilor date despre diversitatea lactobacteriilor și despre rolul speciilor obligative tubului digestiv în menținerea statusului funcțional intestinal optim.

Materiale și metode

În calitate de material de cercetare a servit conținutul intestinal uman (al copiilor de 1-3 ani și maturilor după 50 de ani – perioade cu răspândire largă a dismicrobismului intestinal). Pe parcursul procesului investigațional s-au studiat mostrele de conținut intestinal acumulate de la subiecți sănătoși și de la persoane cu disfuncții intestinale diareice.

Izolarea monotulpinilor de lactobacterii pentru identificare și investigarea indicilor lor cantitativi și calitativi s-a efectuat conform metodelor microbiologice clasice, prin inocularea mostrelor de conținut intestinal acumulat la diferite vârste diluate de la 10^{-1} până la 10^{-9} pe medii nutritive electivă pentru ficare gen de bacterii în parte. Denumirea și componența lor este reflectată în lucrările noastre precedente, iar identificarea monotulpinilor izolate s-a realizat conform determinantului Bergy 1984 [24].

Subiecții practic sănătoși au locuit în condiții urbane de domiciliu, iar cei cu disfuncții intestinale diareice s-au aflat în condiții spitalicești municipale.

Rezultate

În procesul investigațional, au fost izolate 157 de monotulpini de microorganisme vii, care s-au supus identificării. Conform rezultatelor obținute, 78 din ele s-au atribuit la genul *Lactobacillus*, 12 – *Streptococcus*; 6 – *Lactococcus* și 14 – *Enterococcus*. Deci, s-a reușit izolarea a 66,76% de lactobacterii cu diferențierea respectivă de 49,7%; 4,35%; 3,80% și 8,91%.

Rezultatele analizei microbiologice a mostrelor de conținut intestinal acumulat de la copii cu divers

status funcțional intestinal la vârstele de 1, 2 și 3 ani sunt reflectate în tabelul 1.

Analizând datele tabelului 1, obținute de la copiii clinic sănătoși, observăm că indicii cantitativi ai lactobacteriilor sunt în funcție de categoria copiilor și scad spre vârsta de 3 ani. Concomitent, trebuie de menționat că din 4 genuri de lactobacterii numai genului *Lactobacillus* îi revine cea mai mare valoare numerică, apoi urmează *Streptococcus*, *Enterococcus* și cea mai mică – genului *Lactococcus*.

Tabloul numeric al lactobacteriilor este destul de schimbat la copiii cu disfuncții intestinale diareice. În acest caz prevalează microorganismele genului *Enterococcus*, apoi urmează *Lactobacillus*, *Streptococcus* și *Lactococcus*, adică este modificat echilibrul ecologic sanogen al bacteriocenozei intestinale. De aceea, starea patologică a ultimei este considerată în calitate de cauză a apariției și dezvoltării disfuncțiilor diareice de tip general (fără diferențierea etiologiei lor bacteriene).

Rezultatele obținute în experiențe pe copii de vârstă fragedă au argumentat repetarea lor în organismul uman matur, mai ales după 50 de ani. S-au divizat 2 loturi cu statut adecvat celui al copiilor, adică I fiind clinic sănătoși și II – cu disfuncții intestinale diareice. În dinamica de vârstă (la 50, 55 și 60 ani) s-au supus analizării microbiologice mostrele de conținut intestinal în scopul evidențierii indicilor cantitativi ai lactobacteriilor, aparținând diverselor genuri. Datele studiului sunt reflectate în tabelul 2.

Din tabelul 2 reiese că în tubul digestiv uman matur, clinic sănătos, conviețuiesc toate genurile nominalizate de lactobacterii, iar indicii lor cantitativi diferă. La maturii de 50 de ani primul loc îl ocupă genul *Lactobacillus*, al doilea – *Enterococcus*, al treilea – *Lactococcus* și al patrulea – *Streptococcus*. Pe când după 50 de ani tabloul numeric al lactobacteriilor suferă unele schimbări, de exemplu: lactobaciliile și enterococii se observă într-o cantitate mai mică respectiv cu 15,83 și 11,52% la 55 de ani, iar la 60 de ani numărul acestora a scăzut cu 16,85% și 13,36%. Concomitent streptococii și lactococii s-au schimbat cu locurile: primii au ocupat locul trei și ultimii – patru.

Analizând datele tabelului 2 referitor la lotul II, trebuie de menționat că în tubul digestiv al maturilor cu simptome de disfuncții intestinale diareice valorile numerice ale microorganismelor din genul *Lactobacillus* se diminuează în medie cu 46,97%, iar *Enterococcus* cresc cu 16,58%. Calitativ ultimul gen este prezentat în majoritate de specia condiționat patogenă *Enterococcus faecalis*, iar la subiecții clinic sănătoși – de specia *Enterococcus faecium*. Nu mai puțin important este faptul că lactobacteriile ge-

Tabelul 1

Indicii cantitativi ai lactobacteriilor în conținutul intestinal la copiii de diferită vârstă

Categoría copiilor	Genul microorganismelor	Cantitatea de celule microbiene la 1g de conținut intestinal, logaritmi zecimali, conform vârstei copiilor, ani		
		1	2	3
I – clinic sănătoși	<i>Lactobacillus</i>	8,72±0,12	7,65±0,14	7,17±0,11
	<i>Streptococcus</i>	6,17±0,13	5,54±0,15	5,38±0,12
	<i>Lactococcus</i>	4,20±0,15	3,72±0,11	3,64±0,14
	<i>Enterococcus</i>	5,34±0,14	4,85±0,10	4,77±0,16
II – cu disfuncții intestinale diareice	<i>Lactobacillus</i>	3,84±0,16	3,59±0,19	3,49±0,17
	<i>Streptococcus</i>	3,53±0,18	2,47±0,17	2,30±0,19
	<i>Lactococcus</i>	2,71±0,17	2,38±0,18	2,20±0,16
	<i>Enterococcus</i>	6,85±0,21	5,90±0,15	5,65±0,18

Tabelul 2

Indicii cantitativi ai lactobacteriilor în conținutul intestinal la maturi de diferită vârstă

Categoría maturilor	Genul microorganismelor	Cantitatea de celule microbiene la 1g de conținut intestinal, logaritmi zecimali, conform vârstei maturilor, ani		
		50	55	60
I – clinic sănătoși	<i>Lactobacillus</i>	7,77±0,15	6,54±0,12	6,46 ±0,14
	<i>Streptococcus</i>	1,64±0,14	5,54±0,13	5,38±0,15
	<i>Lactococcus</i>	2,38±0,12	2,13±0,10	1,90±0,13
	<i>Enterococcus</i>	6,51±0,13	5,76±0,14	5,64±0,12
II – cu disfuncții intestinale diareice	<i>Lactobacillus</i>	3,65 ±0,17	3,45±0,20	3,32±0,19
	<i>Streptococcus</i>	0	0	0
	<i>Lactococcus</i>	0	0	0
	<i>Enterococcus</i>	7,59±0,23	7,90±0,17	8,38±0,21

nurilor *Streptococcus* și *Lactococcus* la pacienții cu disfuncții diareice nu se evidențiau. Datele obținute în rezultatul investigațiilor conținutului intestinal uman matur ne-au permis să conchidem că după 50 de ani se mărește riscul apariției și dezvoltării disfuncțiilor intestinale diareice, care ulterior se complică din cauza multiplicării intensive a microorganismelor condiționat patogene în general și lactobacteriilor speciei *Enterococcus fecalis* în special.

Așadar, rezultatele obținute au argumentat rolul determinant al speciilor de lactobacterii obligative tubului digestiv în menținerea statusului lui funcțional la nivel optim și pot servi ca bază pentru recomandarea măsurilor de optimizare a indicilor cantitativi și calitativi ai lactobacteriilor la copiii cu vârsta până la 3 ani și la maturi, mai ales după 50 de ani.

Discuții

Informația existentă în majoritate este dedicată genului *Lactobacillus*. Studiind datele bibliografice prin prisma diverselor specii de lactobacterii, n-am reușit să ne facem o opinie justă despre ele. Numai efectuarea cercetărilor științifice în cauză au argumentat posibilitatea și raționalitatea recomandării măsurilor eficiente de reducere a riscului apariției maladiilor diareice, inclusiv disfuncțiilor de etiologie

nedeterminată la copiii cu vârsta până la 3 ani și la maturii după 50 de ani.

Concluzii:

1. A fost constatat faptul că în conținutul intestinal uman la diferite vârste sunt prezente diverse genuri de lactobacterii (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* și *Enterococcus*).

2. Indicii cantitativi ai lactobacteriilor sunt specifici și labili, în funcție de starea funcțională a tubului digestiv (sănătoasă sau patologică).

3. Perioadele de activitate vitală timpurie postnatală și cea de după 50 ani pot fi considerate ca cele de risc privind apariția și dezvoltarea dismicrobismului și disfuncțiilor intestinale diareice, fiindcă riscul se mărește proporțional cu creșterea vârstei, dar este mai pronunțat tocmai în aceste perioade.

Bibliografie

1. Bongaerts G.P., Severijnen R.S., *The beneficial, antimicrobial effect of probiotics*. In: *Med. Hypotheses*, 2001, nr 56 (2), p. 174-177.
2. Collado M.C., Grześkowiak Ł., Salminen S., *Probiotic strains and their combination inhibit in vitro adhesion of pathogens to pig intestinal mucosa*. In: *Curr. Microbiol.*, 2007, nr. 55(3), p. 260-265.
3. De Camps C., Maroncle N., Balestrino D. et al., *Persistence of colonization of intestinal mucosa by a probi-*

- otic strain *L. casei* subsp. *rhamnosus* Lcr 35, after oral consumption. In: *J. Clin. Microbiol.*, 2003, nr. 42 (3), p. 1270-1273.
4. De Roos N.M., Katan M.B., *Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: of review of papers published between 1988-1998*. In: *Amer. J. Clin. Nutr.*, 2000, nr. 71(2), p. 405-411.
 5. Elmadafa I., Heinsle C., Majchrzak D., *Influence of a probiotic yoghurt on the status of vitamins B(1), B(2) and B(6) in the healthy adult human*. In: *Ann. Nutr. Metab.*, 2001, nr. 45(1), p. 13-18.
 6. *Evidențierea bacteriologică rapidă a dismicrobismului intestinal*. Recomandații metodice (Maria Timoșco, Natalia Florea, Aliona Velciu), Chișinău, 2010, 25 p.
 7. Flint H.J., Duncan S.H., Scott K.P., Louis P., *Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health*. In *Environ. Microbiol.*, 2007, nr. 9(5), p. 1101-1111.
 8. Floch M.H., Madsen K.K., Jenkins D.J. et al., *Recommendations for probiotic use*. In *J. Clin. Gastroenterol.*, 2006, nr. 40(3), p. 275-278.
 9. Forestier C., De Camps C., Vatoux C., Joly B., *Probiotic activities of Lactobacillus casei rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties*. In: *Res. Microbiol.*, 2001, nr. 152 (2), p. 167-173.
 10. Geier M.S., Butler R.N., Howarth G.S., *Inflammatory bowel disease: current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics*. In: *Int. J Food Microbiol.*, 2007, nr. 115(1), p. 1-11.
 11. Gopal P.K., Prasad J., Smart J., Gill H.S., *In vitro adherence properties of Lactobacillus rhamnosus DR20 and Bifidobacterium lactis DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic Escherichia coli*. In: *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, nr. 67 (3), p. 207-216.
 12. Gusils C., Cuzzo S., Sesma F., Gonzalez S., *Examination of adhesive determinants in three species of Lactobacillus isolated from chicken*. In: *Can. J. Microbiol.*, 2002, nr. 48 (1), p. 34-42.
 13. Jain P.K., Mc Naught C.E., Anderson A.D. et al., *Influence of synbiotic containing Lactobacillus acidophilus La5, Bifidobacterium lactis Bb 12, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients : a randomised controlled trial*. In: *Clin. Nutr.*, 2004, 23 (4), p. 441-445.
 14. Kailaspathy K., Chin J., *Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium spp*. In: *Immunol. Cell. Biol.*, 2000, nr. 78 (1), p. 80-88.
 15. Kinoshita H., Uchida H., Kawai Y. et al., *Quantitative evaluation of adhesion of lactobacilli isolated from human intestinal tissues to human colonic mucin using surface plasmon resonance (BIACORE assay)*. In: *J. Appl. Microbiol.*, 2007, nr. 102(1), p. 116-123.
 16. Martín R., Jiménez E., Olivares M. et al., *Lactobacillus salivarius CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair*. In: *Int. J Food Microbiol*, 2006, 112(1), p. 35-43.
 17. Matsumoto M., Hara K., Benno Y., *The influence of the immunostimulation by bacterial cell components derived from altered large intestinal microbiota on probiotic anti-inflammatory benefits*. In: *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, 2007, nr. 49(3), p. 387-390.
 18. Matsuzaki T., Takagi A., Ikemura H. et al., *Intestinal microflora: probiotics and autoimmunity*. In: *J. Nutr.*, 2007, nr. 137(3 Suppl 2), p. 798S-802S.
 19. Medici M., Vinderola C.G., Weill R. et al., *Effect of fermented milk containing probiotic bacteria in the prevention of an enteroinvasive Escherichia coli infection in mice*. In: *J. Dairy Res.*, 2005, nr. 72 (2), p. 243-249.
 20. Michail S., Abernathy F., *Lactobacillus plantarum reduces the in vitro secretory response of intestinal epithelial cells to enteropathogenic Escherichia coli infection*. In: *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2002, nr. 35 (3), p. 350-355.
 21. Oozeer R., Leplingard A., Mater D.D. et al., *Survival of Lactobacillus casei in the human digestive tract after consumption of fermented milk*. In: *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, nr. 72(8), p. 5615-5617.
 22. Quigley E.M., *New perspectives on the role of the intestinal flora in health and disease*. In: *J. Gastrointestin. Liver. Dis.*, 2006, nr. 15(2), p. 109-110.
 23. Salminen S., Isolauri E., Onnela T., *Gut flora in normal and disordered states*. In: *Chemotherapy*, 2004, nr. 41, p. 5-15.
 24. Timoșco M., *Stresul și flora microbiană intestinală*, Chișinău, 2005, 172 p.
 25. Vinderola G., Perdigon G., Duarte J. Et al., *Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation*. In: *J. Dairy Res.*, 2006, nr. 73(4), p. 472-479.

Prezentat la 20.06.2011

Natalia FLOREA

e-mail: natalias@gmail.com,

tel.: 069288710